ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:202307.00163v1

马醉木二萜成分及其乙酰胆碱酯酶抑制活性研究

李慧娟[1,2]，全伟[3]，罗娥娥[2]，秦徐杰[2]，华燕[1,*]

(1. 西南林业大学，西南山地森林资源保育与利用教育部重点实验室，云南 昆明 650224；2. 中国科学院昆明植物研究所，植物化学与西部植物资源可持续利用国家重点实验室，云南 昆明 650201；3. 云南省农村科技服务中心，云南 昆明 650021)

摘 要：为研究马醉木叶中的二萜成分及其乙酰胆碱酯酶抑制活性，该研究采用薄层色谱显色特征，硅胶、MCI 和半制备高效液相等色谱技术对其进行分离与纯化，通过波谱数据 (NMR 和 MS) 分析并与文献报道数据对比，鉴定了所得化合物的结构，同时采用 ellman 法首次对其乙酰胆碱酯酶抑制活性进行评价。结果表明：从马醉木叶中分离并鉴定了 8 个二萜化合物，分别是 pierisformoside F (**1**)、3-*epi*-grayanotoxin XVIII (**2**)、3-*epi*-grayanotoxin B (**3**)、asebotoxin-X (**4**)、pierisformosin B (**5**)、gayanotoxane-Ⅴ (**6**)、rhodojaponin III (**7**) 和 pierisformosin C (**8**)。其中，化合物 **1** 为首次从该植物中分离得到，化合物 **8** 表现出乙酰胆碱酯酶抑制活性。综上表明，马醉木中含有丰富的二萜成分和活性成分，为其后续开发和利用提供了一定的理论依据。

关键词：杜鹃花科，马醉木，二萜，pierisformoside F，乙酰胆碱酯酶抑制活性

中图分类号：Q946　　　　　**文献标识码：**A

Diterpenoids with acetylcholinesterase inhibitory activity from *Pieris japonica*

LI Huijuan[1,2], QUAN Wei[3], LUO Ee[2], QIN Xujie[2], HUA Yan[1,*]

(1. Key Laboratory for Forest Resources Conservation and Utilisation in the Southwest Mountains of China, Ministry of Education, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China; 2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, Yunnan, China; 3. Yunnan Rural Science and Technology Service Center, Kunming 650021, Yunnan, China)

Abstract: In order to investigate the diterpenoid components from the leaves of *Pieris japonica*

收稿日期：2023-03-16

基金项目：国家重点研发计划项目（2021YFD1000202）；国家自然科学基金（31970377）；云南省自然科学基金（202001AW070010) [Supported by National Key R&D Program of China (2021YFD1000202)；National Natural Science Foundation of China (31970377); Natural Science Foundation of Yunan (202001AW070010)]。

作者简介：李慧娟（1997-），硕士研究生，主要从事天然产物化学研究，(E-mail)2544148341@qq.com。

***通信作者：**华燕，博士，教授，博士生导师，主要从事天然产物化学研究，(E-mail)1026535163@qq.com。

ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:202307.00163v1

and their acetylcholinesterase inhibitory activities, with the aid of thin-layer chromatography color characteristics, silica gel, MCI and semi-preparative high-performance liquid chromatography technology, the target constituents were isolated and purified. The structures of the obtained compounds were identified by analyses of their spectral data (NMR and MS) and comparison of their data with those of reported in the literature. Meanwhile, the human acetylcholinesterase (*h*AChE) inhibitory effects of obtained diterpenoids were evaluated for the first time by a ellman method. The results showed that eight diterpenoid compounds were isolated and identified from the leaves of *Pieris japonica*, namely pieriformoside F (**1**), 3-*epi*-grayanotoxin XVIII (**2**), 3-*epi*-grayanotoxin B (3), asebotoxin-X (**4**), pieriformosin B (**5**), gayanotoxine-V (**6**), rhodojaponin III (**7**), and pieriformosin C (**8**). Among them, compound **1** was isolated from this plant for the first time, and compound **8** showed AChE inhibitory activity. In conclusion, *Pieris japonica*t is rich in diterpenoids and bioactive components, which provides a certain theoretical basis for its further development and utilization.

Key words: Ericaceae, *Pieris japonica*, diterpenoids, pierisformoside F, acetylcholinesterase inhibitory activities

马醉木（*Pieris japonica*）为杜鹃花科（Ericaceae）马醉木属（*Pieris*）一种常绿灌木植物，主要分布在我国的台湾、安徽、福建、湖北、江西和浙江等省份。除了被用作观赏植物外，马醉木茎叶可以治疗中暑吐泻和疥疮等疾病，同时亦可作杀虫剂等（Yao et al., 2005）。现有研究表明，马醉木属中有很多结构丰富的木藜芦烷(grayanane)、贝壳杉烷（kaurane）和木藜芦烷酚（leucothane）等（Li et al., 2013a; Li et al., 2017a; Li et al., 2017b; Zheng et al., 2020）类型二萜类化学成分。更重要的是，该类成分表现出多样的生物活性，包括抗炎（Zhou et al., 2018）、抗病毒（Li et al., 2013b; Li et al., 2016）、神经保护、cAMP 调节（Wang et al., 2013）、钾通道调节剂（Niu et al., 2018）、拒食（Li et al., 2017b）、PTP1B 抑制（Liu et al., 2014; Zhou et al., 2017）和镇痛（Sun et al., 2018; Sun et al., 2019a）等生物活性。为进一步研究马醉木的物质基础并定向获取其二萜类成分，我们对滇产马醉木叶中的化学成分和人源乙酰胆碱酯酶抑制活性进行了研究，旨为马醉木的后续开发利用奠定一定的物质基础，丰富马醉木化学成分多样性，同时为寻求更多活性成分提供借鉴并为该植物的综合利用提供一定的科学依据。本研究从马醉木叶中分离并鉴定了 8 个二萜化合物，分别是 pierisformoside F (**1**)、3-*epi*-grayanotoxin XVIII (**2**)、3-*epi*-grayanotoxin B (**3**)、asebotoxin-X (**4**)、pierisformosin B (**5**)、gayanotoxane-V (**6**)、rhodojaponin III (**7**) 和 pierisformosin C (**8**)。其中，化合物 pierisformoside F (**1**) 为首次从该植物中分离得到，化合物 pierisformosin C (**8**) 表现出乙酰胆碱酯酶抑制活性。

1 材料、仪器与方法

1.1 实验药材

实验材料于 2021 年 5 月 12 日采自中国科学院昆明植物研究所昆明植物园，经中国科学院昆明植物研究所昆明植物园马永鹏研究员鉴定为马醉木（*Pieris japonica*），植物标本(KIB-Q-202101B) 存放于中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室。

1.2 实验仪器

Agilent 1290 UPLC/6540 Q-TOF 液质联用仪（美国）；AVANCE III 500 MHz 和 AV 600 MHz 核磁共振仪（德国 Brucker 公司）；Hanbon-NP7000C 高效液相色谱仪（江苏汉邦科技有限公司）；Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱（9.4 mm × 250 mm，5.0 μm，美国）；柱层析硅胶粉（200~300 目）和薄层色谱硅胶板（GF_{254}）购自青岛谱科分离材料有限公司；MCI 填料(CHP20/P120，日本三菱化学株式会社)；Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶（Cytiva，瑞典）；C18 MB100-40/75 (Chromatorex，Fuji Silysia，Japan)；Büchi MPLC C-605 双梯度泵系统（瑞士）；色谱乙腈（上海星可高纯溶剂有限公司）；甲醇、氯仿、乙酸乙酯均购自云南仁科商贸有限公司；0.5%香草醛硫酸显色剂（自配）；Na_2HPO_4 (Sigma)；NaH_2PO_4 (Sigma)；乙酰胆碱酯酶(Sigma)；碘化硫代乙酰胆碱（Sigma)；DTNB (Sigma)；他克林（Sigma)；Multiskan FC (Thermo 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 提取与分离

马醉木中的组分用 0.5%的香草醛硫酸显色，根据最初显色为紫红色而随后渐渐的变成蓝色，静置 12 h 之后颜色变为绿色的特征来定向获取其二萜类成分。取干燥马醉木叶 2.5 kg 粉碎后用乙酸乙酯冷浸提取三次，24 h 一次，减压回收提取液后得到总浸膏。浸膏（480 g）经 MCI 柱层析，甲醇−水（40:60→100:0）梯度洗脱，经薄层色谱展开得四个组分（Fr. A~Fr. D)。其中 Fr. A (310 g) 经硅胶柱层析，选 $CHCl_3$−MeOH (30:1→0:1) 为洗脱剂梯度洗脱，根据薄层色谱显色特征得到富含二萜组分 Fr. A_1 和非二萜组分 Fr. A_2。Fr. A_1 (5.8 g) 经 Sephadex LH-20 柱层析，得到两个组分 Fr. A_{1-1} 和 Fr. A_{1-2}。Fr.A_{1-1} (4.0 g) 经硅胶柱层析，$CHCl_3$−MeOH (15:1→0:1) 梯度洗脱，得到五个组分 Fr. A_{1-1-1}−Fr. A_{1-1-5}。Fr. A_{1-1-1} (1.0 g) 经硅胶柱层析，用 $CHCl_3$−MeOH (15:1→0:1) 梯度洗脱，得到化合物 **1** (30 mg)、**2** (26 mg) 和 **3** (100 mg)。Fr.A_{1-1-2} (300 mg) 部分经 RP-18 柱层析，用甲醇−水（35:65→70:30）梯度洗脱，得到化合物 **4** (36 mg) 和 **5** (9 mg)。Fr. A_{1-1-3} (60 mg) 经高效液相色谱（乙腈−水，30:70，5.0 mL· min^{-1}) 纯化，得到化合物 **6** (7.0 mg，t_R = 9 min) 和 **7** (1.2 mg，t_R = 16 min)。Fr. A_{1-1-4} (80 mg) 经高效液相色谱（乙腈−水，20:80，4.0 mL· min^{-1}）纯化，得到化合物 **8** (4.0 mg，t_R = 9.7 min)。

1.3.2 乙酰胆碱酯酶抑制活性测试

乙酰胆碱酯酶抑制活性参照文献（Liu et al., 2020）方法进行测定。DMSO 和他克林分别被选为阴性和阳性对照组，化合物 **1−8** 进行活性测定。化合物的终浓度为 50.0 μmol· L^{-1}，他克林的终浓度为 0.333 μmol· L^{-1}。每组均测定了重复三次。

chinaXiv:202307.00163v1

2 结果与分析

2.1 化合物结构鉴定

马醉木叶乙酸乙酯提取物，经硅胶、Sephadex LH-20、反相半制备高效液相等色谱技术分离与纯化，得到 8 个化合物，利用 ^{1}H-NMR、^{13}C-NMR、ESI-MS 等波谱手段，结合参考文献，确定了这些二萜的结构。所得二萜包括木藜芦烷酚型（**1**）和木藜芦烷型（**2−8**），木藜芦酚型二萜为首次从该植物中分离得到。化合物结构见图 **1**。

图 **1** 化合物 **1−8** 的结构

Fig. **1** Chemical structures of compounds **1−8**

化合物 **1** 白色无定型粉末。$[\alpha]_D^{20}$ −43.80 (*c* 0.1，MeOH)，UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 202 (3.8) nm，ESI-MS *m*/*z* 503 [M + Na]$^+$，分子式 $C_{26}H_{40}O_8$。^{1}H-NMR (500 MHz，methanol-d_4) δ_H：5.02 (1H，s)，4.90 (1H，s)，4.42 (1H，d，*J* = 7.8 Hz)，1.42 (3H，s)，1.18 (3H，s)，1.08 (3H，s)；^{13}C-NMR (125 MHz，methanol-d_4) δ_C：217.5 (C-5)，153.0 (C-10)，105.8 (CH$_2$-20)，99.2 (Glc-CH-1′)，89.1 (C-16)，78.6 (Glc-CH-3′)，78.3 (Glc-CH-5′)，77.6 (CH-3)，75.2 (Glc-CH-2′)，71.7 (Glc-CH-4′)，62.8 (Glc-CH$_2$-6′)，53.4 (CH$_2$-15)，50.8 (C-4)，50.4 (CH-9)，49.3 (CH-6)，48.1 (CH-13)，46.8 (C-8)，44.0 (CH-1)，39.2 (CH$_2$-7)，36.2 (CH$_2$-14)，32.5 (CH$_2$-2)，25.3 (CH$_2$-12)，22.5 (CH$_2$-11)，21.7 (CH$_3$-18)，20.9 (CH$_3$-17)，20.9 (CH$_3$-19)。以上数据与文献（Wang et al., 2000）比对基本一致，故鉴定化合物 **1** 为 pierisformoside F。

化合物**2** 白色无定型粉末。$[\alpha]_D^{20}$ −21.00 (*c* 0.1，MeOH)，ESI-MS *m*/*z* 359 [M + Na]$^+$，分子式$C_{20}H_{32}O_4$。^{1}H-NMR (500 MHz，methanol-d_4) δ_H：5.04 (1H，s)，4.93 (1H，s)，1.35 (3H，s)，1.17 (3H，s)，1.03 (3H，s)；^{13}C-NMR (125 MHz，methanol-d_4) δ_C：152.8 (C-10)，113.5 (CH$_2$-20)，83.5 (C-5)，82.5 (CH-3)，81.3 (C-16)，72.2 (CH-6)，63.2 (CH$_2$-15)，55.3 (CH-9)，51.2 (C-4)，48.0 (CH-13)，46.2 (CH$_2$-7)，45.0 (C-8)，44.2 (CH-1)，39.0 (CH$_2$-14)，35.9 (CH$_2$-2)，26.7 (CH$_2$-11)，25.3 (CH$_3$-19)，24.7 (CH$_3$-17)，24.3 (CH$_2$-12)，19.3 (CH$_3$-18)。以上数据与文

chinaXiv:202307.00163v1

ChinaXiv合作期刊

献（Sun et al., 2019a）比对基本一致，故鉴定化合物**2**为3-*epi*-grayanotoxin XVIII。

化合物 **3** 淡黄色胶状固体。$[\alpha]_D^{20}$ −19.20 (*c* 0.1，MeOH)，UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 202 (3.7) nm，ESI-MS *m/z* 521 $[M + Na]^+$，分子式 $C_{26}H_{42}O_9$。^{1}H-NMR (500 MHz，methanol-d_4) δ_H：5.01 (1H，s)，4.97 (1H，s)，4.31 (1H，d，J = 7.8 Hz)，1.35 (3H，s)，1.22 (3H，s)，1.10 (3H，s)；^{13}C-NMR (125 MHz，methanol-d_4) δ_C：152.1 (C-10)，113.7 (CH_2-20)，105.3 (Glc-CH-1′)，90.0 (CH-3)，83.1 (C-5)，81.2 (C-16)，77.8 (Glc-CH-3′)，77.7 (Glc-CH-5′)，75.4 (Glc-CH-2′)，72.5 (Glc-CH-4′)，71.6 (CH-6)，63.1 (CH_2-15)，62.7 (Glc-CH_2-6′)，55.4 (CH-9)，51.6 (C-4)，47.9 (CH-13)，46.3 (CH_2-7)，45.0 (C-8)，43.9 (CH-1)，37.6 (CH_2-14)，35.9 (CH_2-2) 26.9 (CH_2-12)，26.3 (CH_3-17)，25.3 (CH_3-19)，24.3 (CH_2-11)，19.9 (CH_3-18)。以上数据与文献（Sun et al., 2018）比对基本一致，故鉴定化合物 **3** 为 3-*epi*-grayanotoxin B。

化合物 **4** 白色无定形粉末。$[\alpha]_D^{20}$ −12.20 (*c* 0.1，MeOH)，UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 202 (3.2) nm，ESI-MS *m/z* 465 $[M + Na]^+$，分子式 $C_{23}H_{38}O_8$。^{1}H-NMR (600 MHz，methanol-d_4) δ_H：5.53 (1H，s)，1.42 (3H，d，J = 6.9 Hz)，1.37 (3H，s)，1.33 (3H，s)，1.18 (3H，s)，0.96 (3H，s)；^{13}C-NMR (150 MHz，methanol-d_4) δ_C：175.5 ($COCHOHCH_3$)，85.0 (C-5)，83.6 (CH-3)，83.3 (CH-14)，79.8 (C-16)，79.0 (C-10)，74.1 (CH-6)，68.4 ($COCHOHCH_3$)，60.6 (CH_2-15)，56.5 (CH-13)，55.5 (CH-9)，52.2 (C-4)，51.5 (C-8)，51.2 (CH-1)，43.5 (CH_2-7)，35.5 (CH_2-2)，27.7 (CH_3-20)，27.6 (CH_2-12)，23.7 (CH_3-17)，23.3 (CH_3-19)，22.6 (CH_2-11)，20.7 ($COCHOHCH_3$)，19.3 (CH_3-18)。以上数据与文献（Sakakibara et al., 1980）比对基本一致，故鉴定化合物 **4** 为 asebotoxin-X。

化合物 **5** 白色无定型粉末。$[\alpha]_D^{20}$ −7.20 (*c* 0.1，MeOH)，ESI-MS *m/z* 449 $[M + Na]^+$，分子式 $C_{23}H_{38}O_7$。^{1}H-NMR (600 MHz，methanol-d_4) δ_H：5.49 (1H，s)，1.37 (3H，s)，1.33 (3H，s)，1.18 (3H，s)，0.96 (3H，s)；^{13}C-NMR (150 MHz，methanol-d_4) δ_C：175.6 ($COCH_2CH_3$)，85.0 (C-5)，83.6 (CH-3)，82.8 (CH-14)，79.8 (C-16)，79.0 (C-10)，74.2 (CH-6)，60.7 (CH_2-15)，56.6 (CH-9)，55.4 (CH-13)，52.2 (C-4)，51.5 (C-8)，51.1 (CH-1)，43.7 (CH_2-7)，35.5 (CH_2-2)，28.8 ($COCH_2CH_3$)，27.7 (CH_3-20)，27.7 (CH_2-12)，23.8 (CH_3-17)，23.3 (CH_3-19)，22.6 (CH_2-11)，19.3 (CH_3-18)，9.6 ($COCH_2CH_3$)。以上数据与文献（Wang et al., 1998）比对基本一致，故鉴定化合物 **5** 为 pierisformosin B。

化合物 **6** 白色无定型粉末。$[\alpha]_D^{20}$ −36.00 (*c* 0.1，MeOH)，UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 204 (3.3) nm，ESI-MS *m/z* 463 $[M + Na]^+$，分子式 $C_{23}H_{36}O_8$。其 ESI-MS 谱显示分子离子峰为 *m/z* 463 $[M + Na]^+$。^{1}H-NMR (600 MHz，methanol-d_4) δ_H：5.50 (1H，s)，4.31 (1H，q，J = 6.9 Hz)，1.44 (3H，s)，1.41 (3H，d，J = 6.9 Hz)，1.33 (3H，s)，1.22 (3H，s)，1.07 (3H，s)；^{13}C-NMR (150 MHz，methanol-d_4) δ_C：175.5 ($COCHOHCH_3$)，82.8 (CH-14)，80.2 (C-5)，79.9 (C-16)，78.1 (C-10)，73.3 (CH-6)，68.4 ($COCHOHCH_3$)，65.0 (CH-3)，60.6 (CH-2)，60.3 (CH_2-15)，56.5 (CH-9)，55.7 (CH-13)，54.4 (CH-1)，51.3 (C-4)，48.4 (C-8)，43.6 (CH_2-7)，30.3 (CH_3-20)，27.6 (CH_2-12)，23.7 (CH_3-17)，22.4 (CH_2-11)，21.2 (CH_3-19)，20.7 ($COCHOHCH_3$)，20.1 (CH_3-18)。

chinaXiv:202307.00163v1

chinaXiv:202307.00163v1

以上数据与文献（Sakakibara et al., 1980）比对基本一致，故鉴定化合物 **6** 为 asebotoxin III。

化合物 **7** 白色无定型粉末。$[\alpha]_D^{20}$ −6.20 (*c* 0.1，MeOH)，ESI-MS *m/z* 391 $[M + Na]^+$，分子式 $C_{20}H_{32}O_6$。^{1}H-NMR (600 MHz，methanol-d_4) δ_H：1.42 (3H，s)，1.30 (3H，s)，1.25 (3H，s)，1.15 (3H，s)；^{13}C-NMR (150 MHz，methanol-d_4) δ_C：81.3(C-16)，80.4 (C-5)，79.8 (CH-14)，78.4 (C-10)，73.8 (CH-6)，65.1 (CH-3)，60.6 (CH-2)，59.7 (CH_2-15)，56.7 (CH-9)，56.0 (CH-1)，54.7 (CH-13)，52.4 (C-8)，48.6 (C-4)，44.0 (CH_2-7)，30.4 (CH_3-20)，27.2 (CH_2-12)，23.3 (CH_3-17)，22.4 (CH_2-11)，21.3 (CH_3-19)，20.2 (CH_3-18)。以上数据与文献（Klocke et al., 1991）比对基本一致，故鉴定化合物 **7** 为 rhodojaponin III。

化合物 **8** 白色无定型粉末。$[\alpha]_D^{20}$ −1.80 (*c* 0.1，MeOH)，ESI-MS *m/z* 465 $[M + Na]^+$，分子式 $C_{23}H_{38}O_8$。^{1}H-NMR (600 MHz，$CDCl_3$) δ_H：5.61 (1H，s)，1.35 (3H，s)，1.32 (3H，s)，1.20 (3H，s)，0.99 (3H，s)；^{13}C-NMR (150 MHz，$CDCl_3$) δ_C：173.0 ($\underline{CO}CH_2CH_3$)，83.2 (CH-14)，83.1 (CH-3)，82.7 (C-5)，78.8 (CH-6)，78.4 (C-16)，77.7 (C-10)，77.7 (CH_2-7)，54.7 (C-8)，54.6 (CH_2-13)，53.9 (CH-9)，51.9 (CH_2-15)，51.9 (C-4)，49.3 (CH-1)，34.7 (CH-2)，28.5 ($CO\underline{CH_2}CH_3$)，28.2 (CH_3-20)，26.7 (CH_2-12)，23.1 (CH_3-17)，23.0 (CH_3-18)，21.7 (CH_2-11)，18.8 (CH_3-19)，9.2 ($COCH_2\underline{CH_3}$)。以上数据与文献（Wang et al., 1998）基本一致，故鉴定化合物 **8** 为 pierisformosin C。

2.2 乙酰胆碱酯酶抑制活性筛选

由表 1 可知，在 50.0 μmol· L^{-1} 浓度下，化合物 **8** 具有一定的乙酰胆碱酯酶抑制作用，其抑制率为 23.88% ± 2.47% (抑制率<20.0%)。

表 1 化合物对乙酰胆碱酯酶的抑制作用

Table **1** Inhibitory effect of compounds on acetylcholinesterase (AChE)

化合物 Compound	抑制率（Inhibition rate, %）	标准差（SD, %）
1	17.01	1.25
2	5.98	1.45
3	2.59	0.88
4	4.24	0.83
5	12.79	1.92
6	14.07	1.35
7	5.68	0.93
8	23.88	2.47
他克林（Tacrine）	63.44	1.78

3 讨论与结论

对马醉木叶乙酸乙酯提取部分，进行分离纯化并对其进行乙酰胆碱酯酶抑制活性测定，经鉴定得到 8 个高度氧化的二萜类成分，主要为木黎芦烷型和木黎芦烷酚型二萜，其中化合物 **1** 为首次从该植物中分离得到，化合物 **8** 有一定的乙酰胆碱酯酶抑制活性。

现代药理学研究表明，马醉木分离得到的化合物具有拒食性、杀虫性、镇痛和抗炎等多

种生物功能。譬如，2019 年，Sun 等对分离得到的化合物 pierisformoside F (**1**)、3-*epi*-grayanotoxin XVIII (**2**) 和 3-*epi*-grayanotoxin B (**3**)进行了体外扭体实验，研究发现，它们都具有很好的镇痛作用，在 5.0 mg kg^{-1} 的剂量下扭体抑制率超过 50% (Sun et al., 2018; 2019a; 2019b)；1980 年，Yasushi 等对分离的胃下神经输卵管注射分离得到的化合物 asebotoxin III (**6**) 发现其能刺激引起第一次快速收缩后引发强烈的第二次缓慢收缩（Yasushi, 1980)；1991 年，Klocke 等采用双重选择生物测定法对分离到的化合物 rhodojaponin III (**7**) 进行了拒食活性评价，发现其具有拒食活性，后期还有望将其作为杀虫剂使用（Klocke et al., 1991)，这与本研究得到的化合物一致。但经文献调研，鲜有该类成分乙酰胆碱酯酶抑制作用的报道，故对分离得到的化合物首次进行乙酰胆碱酯酶抑制活性测定。研究结果表明，马醉木中具有乙酰胆碱酯酶抑制活性的二萜类成分，为今后充分利用马醉木植物资源、使用现代植物化学手段深入挖掘该类成分，寻找具有乙酰胆碱酯酶抑制活性的二萜类成分提供了研究基础。

参考文献：

KLOCKE JA, Hu MY, CHIU SF, et al., 1991. Grayanoid diterpene insect antifeedants and insecticides from *Rhododendron molle* [J]. Phytochemistry, 30(6): 1797–1800.

LI CH, LOU SH, LI SH, et al., 2017a. New antifeedant grayanane diterpenoids from the flowers of *Pieris formosa* [J]. Molecules, 22(9): 1431–1439.

LI CH, YAN XT, ZHANG AL, et al., 2017b. Structural diversity and biological activity of the genus *Pieris* terpenoids [J]. J Agric Food Chem, 65(46): 9934–9949.

LI Y, LIU YB, YAN HM, et al., 2016. Rhodomollins A and B, two diterpenoids with an unprecedented backbone from the fruits of *Rhododendron molle* [J]. Sci Rep, 6(1): 36752–36757.

LI Y, LIU YB, YU SH, 2013a. Grayanoids from the Ericaceae family: structures, biological activities and mechanism of action [J]. Phytochem Rev, 12(2): 305−325.

LI Y, LIU YB, ZHANG JJ, et al., 2013b. Mollolide A, a diterpenoid with a new 1,10:2,3-disecograyanane skeleton from the roots of *Rhododendron mole* [J]. Org Lett, 15(12): 3074–3077.

LIU CC, LEI C, Zhong Y, et al., 2014. Novel grayanane diterpenoids from *Rhododendron principis* [J]. Tetrahedron, 70(29): 4317–4322.

LIU H, HE XZ, FENG MY, et al., 2020. Acylphloroglucinols with acetylcholinesterase inhibitory effects from the fruits of *Eucalyptus robusta* [J]. Bioorg Chem, 103: 104127.

NIU CS, LI Y, LIU YB, et al., 2018. Grayanane diterpenoids with diverse bioactivities from the roots of *Pieris formosa* [J]. Tetrahedron, 74(3): 375–382.

chinaXiv:202307.00163v1

ChinaXiv合作期刊

chinaXiv:202307.00163v1

SAKAKIBARA J, KAIYA T, SHIRAI N, 1980. Studies on the constituents of *Pieris japonica*. Isolation and structural elucidation of a new diterpene, asebotoxin-X and a new diterpene glucoside, pieroside A [J]. Yakugaku Zasshi, 100(5): 540–545.

SUN N, ZHENG G, HE M, et al., 2019a. Grayanane diterpenoids from the leaves of *Rhododendron auriculatum* and their analgesic activities [J]. J Nat Prod, 82(7): 1849–1860.

SUN N, FENG YY, ZHENG QH, et al., 2019b. Analgesic diterpenoids with diverse carbon skeletons from the leaves of *Rhododendron auriculatum* [J]. Phytochemistry, 168: 112-113.

SUN N, ZHU Y, ZHOU H, et al., 2018. Grayanane diterpenoid glucosides from the leaves of *Rhododendron micranthum* and their bioactivities evaluation [J]. J Nat Prod, 81(12): 2673–2681.

WANG LQ, CHEN SN, CHENG KW, et al., 2000. Diterpene glucosides from *Pieris formosa* [J]. Phytochemistry, 54(8): 847–852.

WANG LQ, DING BY, QIN GW, et al., 1998. Grayanoids from *Pieris formosa* [J]. Phytochemistry, 49(7): 2045–2048.

WANG WG, WU ZY, CHEN R, et al., 2013. Pierisformotoxins A−D, polyesterified grayanane diterpenoids from *Pieris formosa* and their cAMP-decreasing activities [J]. Chem Biodivers, 10(16): 1061–1071.

YAO GM, DING Y, ZUO JP, et al., 2005. Dihydrochalcones from the Leaves of *Pieris japonica* [J]. J Nat Prod, 68(3): 392-396.

YASUSHI OZ, HIROSH HK, 1980. The pharmacological nature of asebotoxin III-induced slower phasic contractile response to nerve stimulation in the guinea pig hypogastric nerve-vas deferens [J]. J Pharm Pharmacol, 32(2): 224-225.

ZHENG G, JIN P, HUANG L, et al., 2020. Structurally diverse diterpenoids from *Pieris japonica* as potent analgesics [J]. Bioorg Chem, 99: 103794.

ZHOU J, LIU T, ZHANG H, et al., 2018. Anti-inflammatory grayanane diterpenoids from the leaves of *Rhododendron mole* [J]. J Nat Prod, 81(1): 151–161.

ZHOU J, ZHAN G, ZHANG H, et al., 2017. Rhodomollanol A, a highly oxygenated diterpenoid with a 5/7/5/5 tetracyclic carbon skeleton from the leaves of *Rhododendron molle* [J]. Org Lett, 19(14): 3935–3938.